





Device and process for isolating nucleic acids from cell suspensions

Patent number: DE4034036
Publication date: 1992-04-30
Inventor: HENCO KARSTEN DR (DE); COLPAN METIN DR (DE);
FEUSER PETRA (DE)
Applicant: DIAGEN INST MOLEKULARBIO (DE)
Classification:
- **international:** C07H21/04; C12P19/34
- **european:** C12N15/10A2; C12N15/10A2B; C12Q1/68A4
Application number: DE19904034036 19901026
Priority number(s): DE19904034036 19901026

Also published as:

 WO9207863 (A1)
 EP0555270 (A1)
 US6020186 (A1)
 EP0555270 (B1)

Abstract of DE4034036

The description relates to a process for isolating nucleic acids by the lysis of intact cells and the removal of the nucleic acids from the lysed cells, in which: a) the cells are immobilised in a porous matrix, whereby the size of the hollows in the matrix is of the order of that of the type of cell to be lysed; b) the cells are lysed; c) the nucleic acids are fixed on the surface of the matrix; and then d) they are eluted. The description also relates to a device for implementing the process of the invention.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

19 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift
10 DE 40 34 036 A 1

53 Int. Cl. 5:
C07 H 21/04
C 12 P 19/34

21 Aktenzeichen: P 40 34 036.8
22 Anmeldetag: 28. 10. 90
23 Offenlegungstag: 30. 4. 92

10

71 Anmelder:

Diagen Institut für molekularbiologische Diagnostik
GmbH, 4000 Düsseldorf, DE

74 Vertreter:

von Kreisler, A., Dipl.-Chem.; Seiting, G., Dipl.-Ing.;
Werner, H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Schönwald, K.,
Dr.-Ing.; Fues, J., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Böckmann
gen. Dallmeyer, G., Dipl.-Ing.; Hilleringmann, J.,
Dipl.-Ing.; Jönsson, H., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.,
Pat.-Anwälte, 5000 Köln

72 Erfinder:

Henco, Karsten, Dr.; Colpan, Metin, Dr., 4006
Erkrath, DE; Feuser, Petra, 5000 Köln, DE

Prüfungsentrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Vorrichtung und Verfahren zur Isolierung von Nukleinsäuren aus Zellsuspensionen

57 Es wird ein Verfahren beschrieben zur Isolierung von
Nukleinsäuren durch Lyse intakter Zellen und Entfernung der
aus den lysierten Zellen ausgetretenen Nukleinsäuren, de-
durch gekennzeichnet, daß

- a) die Zellen in einer porösen Matrix immobilisiert werden,
wobei die Größe der Hohlräume der Matrix in der Größen-
ordnung des zu lysierenden Zelltyps liegt,
- b) die Zellen lysiert werden,
- c) die Nukleinsäuren auf der Matrixoberfläche fixiert werden
und danach
- d) eluiert werden.

Es wird ebenfalls eine Vorrichtung zur Durchführung des
erfindungsgemäßen Verfahrens beschrieben.

DE 40 34 036 A 1

DE 40 34 036 A1

Beschreibung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Isolierung von Nukleinsäuren durch Lysis intakter Zellen und Entfernung der aus den lysierten Zellen ausgetretenen Nukleinsäuren sowie eine Vorrichtung zur Durchführung dieses Verfahrens.

Die Reinigung von Nukleinsäuren spielt eine zentrale Rolle in der modernen Molekularbiologie. Nukleinsäuren dienen als Ausgangsmaterial für Genklonierungen und genetische Analysen in der labordiagnostischen Forschung und im routinemäßigen Einsatz. Zum Beispiel wird auf Nukleinsäurebasis die Analyse genetischer Erkrankungen von Blutzellen, Virus- und Bakterienanalytik aus Blut, Urin, Stuhl oder Sekreten durchgeführt. Der Analyse aus Vollblut kommt dabei besondere klinische Bedeutung zu.

Oblicherweise werden Nukleinsäuren aus Zellen gewonnen. Dabei werden Zellen beispielsweise unter stark denaturierenden und gegebenenfalls reduzierenden Bedingungen aufgeschlossen (Maniatis, T., Fritsch, E.F. & Sambrook, S., 1982, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor University Press, Cold Spring Harbor). Weit verbreitet ist der Aufschluß der Zellen mit Detergenzien als denaturierende Reagenzien und die Verwendung von bestimmten Enzymen zum Abbau der Proteinstrukturen und nukleinsäurespaltenenden Enzymen. So werden beispielsweise Natriumdocylsulfat (SDS) und EDTA als denaturierende Agenzien verwendet und Proteinase K. Das Ergebnis dieses Aufschlußverfahrens ist meistens eine hochviskose gallertartige Struktur, aus der die Nukleinsäuren mittels Phenolextraktion isoliert werden. Die Nukleinsäuren bleiben dabei in großer Länge erhalten und werden nach Dialyse und Präzipitation aus der wäßrigen Phase entfernt. Dieses Aufschlußverfahren ist gegenüber Nicht-Nukleinsäure-Strukturen so aggressiv, daß dem Verfahren auch Gewebestücke unterworfen werden können. Wegen der arbeitsintensiven Technik mit mehrfachem Wechsel der Reaktionsgefäße ist diese Methode jedoch für große Probenaufkommen und Routinepräparationen ungünstig. Dieses Verfahren ist zwar automatisierbar, jedoch bewältigt eine handelsübliche Apparatur gegenwärtig etwa 8 Proben gleichzeitig in vier Stunden (Applied Biosystems A 371). Das Verfahren ist somit teuer und eignet sich nicht für die Durchschleusung großer Probenserien. Weiterhin ist nachteilhaft, daß die Folgereaktionen, wie enzymatische Amplifikation, infolge der großen Längen der isolierten Nukleinsäuren gestört ist. Darüber hinaus sind die anfallenden Lösungen hochviskos und schwer handhabbar. Insbesondere DNA sehr großer Länge ist eher störend, da die mit dem Verfahren gemäß im Stand der Technik gewonnenen Nukleinsäuren gesondert verkleinert werden müssen, um weiterverarbeitet werden zu können.

Der Aufschluß von Zellen in alkalischem Milieu in Gegenwart von Detergenzien, ist technisch zwar einfach, liefert jedoch auch Nukleinsäuren mit großer Länge.

An die Rohpräparation der Nukleinsäuren schließen sich Folgereaktionen an. Diese Folgereaktionen erfordern eine bestimmte Qualität der Nukleinsäuren. So muß diese weitestgehend unversehrt sein, die Ausbeute der Präparation muß hoch und reproduzierbar sein. Der Präparationsweg muß einfach und wirtschaftlich sein und die Möglichkeit zur Automation bieten. Sie muß eine Präparation der Nukleinsäure ohne Gefahr durch Kreuzkontamination anderer Proben ermöglichen, ins-

besondere wenn enzymatische Amplifikationsreaktionen, wie Polymerase Chain Reaction (PCR) (Saiki, R., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. & Erlich, H. A. (1988), Science 239, 487-491) und Ligase Chain Reaction (LCR) (EP-A-83 11 741.8), Anwendung finden. Daher ist es wünschenswert, die Nukleinsäuren in nicht zu großer Kettenlänge zu erhalten, die Zellen möglichst quantitativ aufzuschließen und im übrigen die oben genannten Nachteile der im Stand der Technik bekannten Aufschlußverfahren zu vermeiden.

Das der Erfindung zugrundeliegende technische Problem ist somit die Bereitstellung eines verbesserten Verfahrens zur Isolierung von Nukleinsäuren aus intakten Zellen, insbesondere soll die dabei anfallende Nukleinsäure sich durch nicht zu große Kettenlängen auszeichnen, in wenigen Schritten isolierbar sein und direkt den erforderlichen Folgereaktionen unterworfen werden können.

Dieses technische Problem wird gelöst durch ein Verfahren zur Isolierung von Nukleinsäuren durch Lysis intakter Zellen und Entfernung der aus den lysierten Zellen ausgetretenen Nukleinsäuren, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) die Zellen in einer porösen Matrix immobilisiert werden, wobei die Größe der Hohlräume der Matrix in der Größenordnung des zu lysierenden Zelltyps liegt,
- b) die Zellen lysiert werden,
- c) die Nukleinsäuren auf der Matrixoberfläche fixiert werden und danach
- d) eluiert werden.

Die Matrix besteht vorzugsweise aus porösen, anorganischen oder organischen Polymeren, wobei die Oberflächeneigenschaften des die Matrix bildenden Materials dafür sorgen, daß die Zellen reversibel oder irreversibel an der Oberfläche immobilisiert werden. Vorzugsweise beträgt die Größe der Hohlräume des die Matrix bildenden Materials 1 bis 50 µm. Besonders bevorzugt sind Hohlraumgrößen von 5 bis 15 µm. Erreicht werden kann dies in einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, wenn die Partikelgröße des die Matrix bildenden Materials 15 bis 25 µm beträgt.

Die in der Matrix immobilisierten Zellen werden vorzugsweise durch physikalische oder chemische Einwirkung lysiert. Dabei kann die Lyse entweder mechanisch wie mit Ultraschall oder durch Scherkräfte, osmotischem Schock oder chemisch mittels Detergenzien oder alkalischem Aufschluß erreicht werden.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist die Oberfläche des die Matrix bildenden Materials Ionenaustauschereigenschaften auf. Insbesondere bei Verwendung von Anionenaustauschern kann dann die aus der lysierten Zelle austretende Nukleinsäure reversibel an die Oberfläche des die Matrix bildenden Materials gebunden werden, um nach verschiedenen Waschoperationen dann durch Einstellen hoher Ionenstärken eluiert zu werden.

Die erfindungsgemäße Verfahrensweise führt zur Präparation von Nukleinsäuren mit hoher Reinheit und erlaubt es, eine qualitativ und quantitativ reproduzierbare Analytik durchzuführen, insbesondere in Kombination mit enzymatischen Verfahren zur Amplifikation von Nukleinsäuren. Es hat sich gezeigt, daß milde Aufschlußmethoden mit Detergenzien oder physikalische

DE 40 34 036 A1

3

Aufschlußmethoden, wie Erhitzen einer Probe, die Folgeanwendungen erleichtert. Man erhält bei Anwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens zum Beispiel kürzere zelluläre DNA (< 200 kb) beziehungsweise Gesamtnukleinsäuren aus der Zelle. Die Ursachen für eine limitierte Spaltung der Nukleinsäuren sind nicht vollständig bekannt. Die milden Aufschlußmethoden scheinen jedoch zu einer partiellen Degradation der Nukleinsäure zu führen.

Für die reproduzierbare Arbeitsweise ist es vorteilhaft, eine Matrix mit Ionenaustauschereigenschaften zu verwenden, so daß die freigesetzten Nukleinsäuren an dieser Oberfläche haften können und den Zugriff abbauender Enzyme entzogen sind. Es werden dann Nukleinsäuren mit fast idealer Länge für die Folgereaktionen, wie PCR, gewonnen.

Sollen zum Beispiel weiße Säuger-Blutzellen aufgeschlossen werden, müssen zunächst die DNA-freien Erythrozyten entfernt werden. Verschiedene Verfahren dazu sind bekannt, wie zum Beispiel Gradientenzentrifugation oder Extraktion der Zellen mittels oberflächengekoppelter Antikörper (anti-HLA-Magnetobeads). Als besonders vorteilhaft hat sich erwiesen, die Erythrozyten mittels Dextran zu agglomerieren und ohne Zentrifugation abzutrennen. Der Oberstand enthält die anderen Blutzellen und weniger als 1/100 der anfänglichen Erythrozytenkonzentration. Die weißen Blutzellen werden dann nach dem erfindungsgemäßen Verfahren aus der Suspension in die Poren der Matrix überführt. Dies geschieht durch Druckdifferenz oder Zentrifugationskräfte. Es hat sich herausgestellt, daß es nicht genügt, Zellen beispielsweise durch einfache Zentrifugation, durch Ausbildung eines Pellets oder durch eine Filtration über engmaschige Membranen konzentrieren, da dann der erfindungsgemäße Zellaufschluß nicht mehr zuverlässig erfolgt. Dadurch entstehende, relativ dichte Zellverbände mit direktem Zell/Zell-Kontakt können nur unzureichend mit den milden nicht-ionischen Reagenzien aufgeschlossen werden. Es werden dabei wahrscheinlich nur diejenigen Zellen lysiert, die sich an der Oberfläche eines solchen Zellkonzentrats befinden. Durch das erfindungsgemäße Verfahren wird sichergestellt, daß eine solche Pelletierung nicht einsetzt. Hierbei werden die Zellen durch eine Art Tiefenfiltration in der Matrix konzentriert, d. h. in einem kleinen Volumenelement eingefangen. Das bedeutet, daß Zellen praktisch isoliert in der Matrix hängenbleiben, jedoch nicht übereinander liegen. Erfindungsgemäß erreicht wird dies durch die Verwendung einer porösen Matrix zum Beispiel einem Partikelbett, dessen Zwischenräume in der Größenordnung der Zellgröße liegt. Die Zellen dringen dann bis zu einer bestimmten Tiefe in diese Matrix ein. Bei einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens kommen Silicagelpartikel zum Einsatz mit einer Partikelgröße von vorzugsweise 15 bis 25 µm, so daß Zwischenkornabstände von 1 bis 50 µm, vorzugsweise 5 bis 15 µm, entstehen. Die durchschnittliche Größe von Erythrozyten beträgt 2 µm von Lymphozyten ungefähr 8 µm und von Monozyten etwa 15 µm.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden zur Immobilisierung Partikel verwendet, die in einem inerten Netzwerk aus Membranen, vorzugsweise Teflon, eingebettet sind, wobei die Zwischenräume wiederum in etwa der Dimension der zu lysierenden Zellen entsprechen. Dadurch wird gewährleistet, daß sich die Zellen vorzugsweise innerhalb des Netzwerks festsetzen und sich nicht, zum Beispiel wie auf einem Sterilfil-

4

ter, als dichte Packung in Form eines Filterkuchens absetzen.

Zwischen den Zellen verbleiben enge Kanäle, durch die Lösungen ausgetauscht werden können, wie zum Beispiel das Serum gegen die zell-lyisierende Lösung. Da alle Zellen für Reagenzien gut zugänglich sind, können die milden Lysebedingungen Verwendung finden, ohne daß Ausbeuteverluste zu befürchten sind.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weisen die Partikel Ionenaustauschereigenschaften auf, wie sie beispielsweise in der DE-PS 32 11 305 beschrieben werden. Für die Ausführungsform auf Membranbasis hat sich ein Ionenaustauscher auf Silicagelbasis mit Partikelgrößen zwischen 15 und 25 µm und Porengrößen von 1500 Å als besonders geeignet erwiesen. Der direkte räumliche Kontakt zu allen lysierenden Zellen gewährleistet, daß die DNA nach der Lyse und partiellen Degradation direkt an der Oberfläche der Festphase fixiert wird und so vor weiterführenden Angriffen der Nukleasen geschützt ist. In diesem Zustand können die kontaminierenden Bestandteile leicht ausgewaschen werden, gefolgt von der Elution der sauberen Nukleinsäure in einem kleinen Volumen. Man erhält so reproduzierbare Kettenlängen von durchschnittlich 5 bis 20 kb. Weniger als 10% sind kürzer als 5 kb unter den Aufschlußbedingungen, wie sie in Beispiel 2 beschrieben werden. Dies stellt eine optimale Längenverteilung für eine anschließende enzymatische Nukleinsäureamplifikation dar. Es wurde ebenfalls überraschend festgestellt, daß die gewünschte Größenverteilung bei der Leukozytenpräparation mit Dextran reproduzierbar erreicht wird, während eine Präparation über Ficoll im Gradienten gewöhnlich zu kürzeren Fragmenten (500 bis 1000 bp) führt.

Es hat sich herausgestellt, daß das erfindungsgemäße Verfahren in besonders günstiger Weise mittels der erfindungsgemäß beanspruchten Vorrichtung, die im folgenden beschrieben werden soll, durchgeführt werden kann. Die erfindungsgemäße Vorrichtung besteht aus einem Hohlkörper (4), in dem die die Zellen aufnehmende Matrix (1) zwischen 2 porösen Einrichtungen (2, 3) angeordnet ist. Die Porengröße der Einrichtung 2, 3, vorzugsweise Polyethylen oder Glasfritten, muß dabei größer sein als die Hohlraumgröße des die Matrix 1 bildenden Materials. Vorzugsweise haben die Einrichtungen 2, 3 eine Porengröße von 50 bis 100 µm, wobei die Hohlraumgröße des die Matrix 1 bildenden Materials etwa 1 bis 50 µm beträgt.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist die Matrix 1 eine netzartige Membran mit einer Vielzahl von 1 bis 50 µm großen freien Poren, die zusätzlich Ionenaustauscherpartikel aufweist. In den freien Poren werden dann die Zellen immobilisiert, wobei auf den in dieser Matrix befindlichen Ionenaustauscherpartikeln die freigesetzten Nukleinsäuren absorbiert werden.

Eine ebenfalls bevorzugte Ausführungsform stellt eine Vorrichtung dar, bei der das die Matrix 1 bildende Material ein partikelförmiges organisches oder anorganisches Polymeres ist. Vorzugsweise ist das die Matrix 1 bildende Material ein Kieselgel mit Ionenaustauschereigenschaften und einer Partikelgröße von 15 bis 25 µm.

Die Abb. 1 zeigt ein besonders bevorzugtes Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Der Hohlkörper 4 kann zum Beispiel ein handelsübliches Röhrchen (MoBiCol, MoBiTec, Göttigen oder Millipore UFC3 OHW25) sein. Zwischen zwei eng eingepressten Einrichtungen 2, 3, zum Beispiel Polyethylenfritten mit einer Porengröße von 50 bis 100 µm, befindet sich eine

DE 40 34 036 A1

5

6

Membran mit 5 bis 10 µm großen freien Poren, welche ebenfalls Kieselgel (1500 Å Porengröße, 15 µm Partikelgröße) mit Anionenaustauschereigenschaften enthält. Die Membran weist eine Dicke von ca. 1 mm auf. Die Kapazität des Ionenaustauschermaterials ist etwa 15 µg DNA. Durch Übereinanderlegen entsprechender Membranen läßt sich selbstverständlich die Kapazität für DNA erhöhen. Bei geringer mechanischer Belastung ist auch ein randständiges Verschweißen oder Verkleben der Membran denkbar, wodurch die stabilisierende Wirkung der Einrichtungen 2, 3 entfallen kann, so daß die Membran den Hohlkörper 4 ohne die Einrichtungen verschließt.

Es ist ebenfalls möglich, mit dem beschriebenen Kieselgel kleine Säulen zu füllen, das zwischen 2 Polyethylen-Fritten mit einer Porengröße von 35 µm angeordnet ist. Vorzugsweise wird die obere Einrichtung 2 mit größeren Poren (70 µm) gewählt. Die MoBiCol-Säulen werden mit ca. 70 mg Ionenaustauschergel entsprechend 3 mm Füllhöhe beschickt. Bezüglich Plasmid-DNA ergibt sich eine Kapazität von 150 µg DNA.

Beispiel 1

Zelluläre DNA-Präparation aus Blut: 6 ml Citrat-Blut werden in einem 12 ml PPN-Röhrchen mit 0,12 g Dextran (MW 250 000) homogen versetzt und für 60 min. bei Raumtemperatur inkubiert. Dextran und Erythrozyten bilden Aggregate, die innerhalb 45 min. sedimentieren. Der helle Überstand enthält die Leukozyten annähernd in der natürlichen Zusammensetzung ((1 - 5 · 10⁶ Leukozyten/ml, Erythrozyt/Leukozyt ca. 2/1. 0,5 ml dieses Überstandes werden auf die Vorrichtung aufgetragen und durch Zentrifugation oder Druck durch den Filter geleitet. Die Zellen werden im Netzwerk zurückgehalten. Nach Durchtritt des Serums wird mit 1-0,5 ml Waschlösung (PBS 120 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM KPi pH 7,4) (phosphate buffered saline) gewaschen.

Danach werden die Zellen mit 125 µl einer 1%igen Lösung eines nicht-ionischen Detergens (NP40; Tween 20) lysiert. Mit 0,5 ml 750 mM KCl, 50 mM MOPS pH 7,0, 15% Ethanol werden die Verunreinigungen ausgewaschen. Die DNA wird entweder mit einem Hochsalzpuffer (1,2 M KCl, 50 mM, MOPS, pH 7,0) (200 mM KOH) oder einem Alkalipuffer eluiert. Der Vorteil des Alkalipuffers besteht darin, daß nach Pufferzusatz zwecks Neutralisation beispielsweise direkt eine Nukleinsäure zunächst gefällt werden muß. Es besteht jedoch die Gefahr der Schädigung der DNA. In vielen Fällen kann auch ein Aliquot der Hochsalzelution direkt eingesetzt werden, wenn die Nukleinsäurekonzentration die erforderliche Konzentration aufweist.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Isolierung von Nukleinsäuren durch Lysis intakter Zellen und Entfernung der aus den lysierten Zellen ausgetretenen Nukleinsäuren, dadurch gekennzeichnet, daß
 - a) die Zellen in einer porösen Matrix immobilisiert werden, wobei die Größe der Hohlräume der Matrix in der Größenordnung des zu lysierenden Zelltyps liegt,
 - b) die Zellen lysiert werden,
 - c) die Nukleinsäuren auf der Matrixoberfläche fixiert werden und danach
 - d) eluiert werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekenn-

zeichnet, daß die Matrix ein anorganisches oder organisches Polymeres ist.

3. Verfahren nach Anspruch 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Matrix eine Hohlraumgröße von 1 bis 50 µm aufweist.

4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Hohlräume 5 bis 15 µm groß sind.

5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Partikelgröße der Matrix 10 bis 50 µm, insbesondere 15 bis 25 µm beträgt.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellen durch physikalische oder chemische Einwirkungen lysiert werden.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Lyse der Zellen durch Ultraschall, Scherkräfte, Detergenzien, Enzymen, osmotischer Schock etc. oder Kombination davon erfolgt.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Oberfläche der Matrix Ionenaustauschereigenschaften aufweist.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren durch einen Puffer mit hoher Ionenstärke oder alkalisch eluiert werden.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, wobei zwischen den Schritten a)/b) und/oder b)/c) und/oder c)/d) die Matrix gewaschen wird.

11. Vorrichtung zur Isolierung von Nukleinsäuren aus Zellen nach Aufschluß der Zellen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die zellenaufnehmende Matrix (1) in einem Hohlkörper (4) zwischen 2 porösen Einrichtungen (2, 3) angeordnet ist, wobei die Porengröße der Einrichtungen (2, 3) größer ist als die Hohlraumgröße des die Matrix (1) bildenden Materials.

12. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Porengröße der Einrichtungen (2, 3) 80 bis 100 µm und die Hohlraumgröße des die Matrix (1) bildenden Materials 1 bis 50 µm beträgt.

13. Vorrichtung nach Anspruch 11 und/oder 12, wobei die Matrix (1) eine netzartige Membran ist mit einer Vielzahl von 1 bis 50 µm großen freien Poren, die zusätzlich mit Ionenaustauscherpartikeln versehen ist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 11 und/oder 12, dadurch gekennzeichnet, daß das die Matrix (1) bildende Material ein organisches oder anorganisches Polymeres ist.

15. Vorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß das die Matrix (1) bildende Material Kieselgel mit Ionenaustauschereigenschaften ist und eine Partikelgröße von 15 bis 25 µm aufweist.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

ZEICHNUNGEN SEITE 1

Nummer:
Int. Cl. 8:
Offenlegungstag:

DE 40 34 035 A1
C 07 H 21/04
30. April 1992

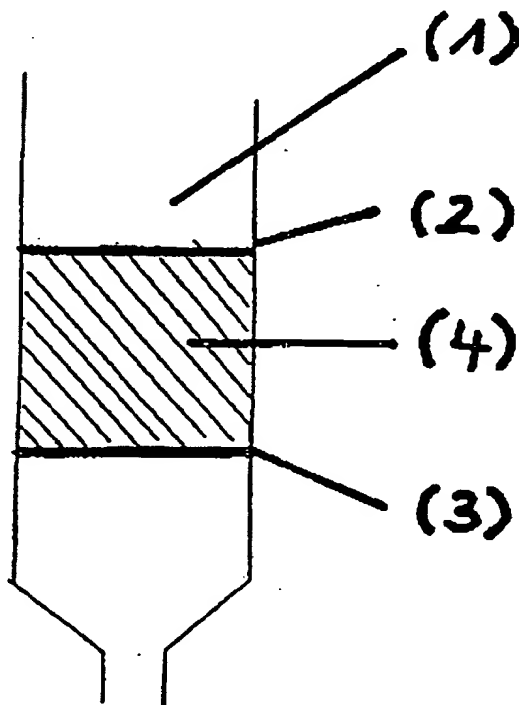


Fig.